

Rafał Czyżykowski, Sylwia Dębska, Maja Habib, Magdalena Krakowska,  
Joanna Kubicka, Piotr Potemski

Klinika Chemioterapii Nowotworów, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Szpital im. Mikołaja Kopernika w Łodzi

# Kryzotynib — nowy lek ukierunkowany molekularnie w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca

Crizotinib — a new molecular targeted agent in the treatment of non-small-cell lung cancer

*Artykuł finansowany ze środków działalności statutowej Kliniki Chemioterapii Nowotworów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi 503/1-034-02/503-01*

## Adres do korespondencji:

Lek. Rafał Czyżykowski  
Klinika Chemioterapii Nowotworów,  
Katedra Onkologii, UM  
e-mail: rafal.czyzykowski@stud.umed.lodz.pl

## STRESZCZENIE

Niedrobnokomórkowy rak płuca stanowi niejednorodną grupę nowotworów o odmiennych cechach histopatologicznych, molekularnych i różnym przebiegu klinicznym. Postęp biologii molekularnej, jaki nastąpił w ostatnich latach, umożliwił identyfikację potencjalnych szlaków onkogenezy. Mutacje genu *ALK* są rzadkim zaburzeniem stwierdzanym u około 5% pacjentów z rozpoznaniem niedrobnokomórkowego raka płuca. Charakterystyczne jest ich występowanie u młodych, niepalących mężczyzn z gruczolowym rakiem płuca. Kryzotynib jest doustnym, selektywnym, ATP-kompetytywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej *ALK*. Kryzotynib zarejestrowany został przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) w sierpniu 2011 roku w leczeniu zaawansowanego i przerzutowego niedrobnokomórkowego raka płuca z rearanżacją *ALK*. Obiecujących wyników dostarczyły badania I i II fazy. Zastosowanie kryzotynibu w wyselekcjonowanej grupie chorych pozwala na osiągnięcie 62% obiektywnych odpowiedzi. Ostateczne wnioski będzie można sformułować po zakończeniu badań III fazy.

**Słowa kluczowe:** niedrobnokomórkowy rak płuca, terapia ukierunkowana molekularnie, inhibitor kinazy tyrozynowej *ALK*, kryzotynib

## ABSTRACT

Non-small cellular lung cancer (NSCLC) represents heterogeneous group of neoplasms with diversity of histopathological, molecular profile and various clinical course. Progress in the field of molecular biology, which has taken place during last years, enabled identification of potential oncogenic pathways. *ALK* mutations are rare and can be found in approximately 5% of patients with the diagnosis of NSCLC. They are more common in young, non-smoking men with adenocarcinoma. Crizotinib is an ATP-competitive, orally bioavailable *ALK* inhibitor and was approved by FDA in August 2011 for treatment of patients with locally advanced or metastatic *ALK*-positive NSCLC. Phase I and II trials revealed promising results. Treatment with crizotinib was associated with 62% of objective response rate in molecularly defined subgroup of patients. Final conclusions are subject to further III phase clinical trials.

**Key words:** non-small cell lung cancer, molecular targeted therapy, *ALK* kinase inhibitor, crizotinib

**Skróty:** Akt — kinaza białkowa Akt; ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) — kinaza chłoniaka anaplastycznego; ALCL (*anaplastic large-cell lymphoma*) — chłoniak anaplastyczny z dużych komórek; ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) — Amerykańskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej; CI (*confidence interval*) — przedział ufności; cMET (*mesenchymal-epithelial transition factor*) — mesenchymalno-nabłonkowy czynnik transportujący; DCR (*disease control rate*) — odsetek kontroli choroby; EGFR (*epidermal growth factor receptor*) — receptor naskórkowego czynnika wzrostu; EML4 — *echinoderm microtubule-associated protein like-4*; Erk (*extracellular signal regulated kinase*) — kinaza zależna od sygnału zewnątrzkomórkowego; FDA (*Food and Drug Administration*) — Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków; FISH (*fluorescence in situ hybridization*) — fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*; HGFR (*hepatocyte growth factor receptor*) — receptor dla czynnika wzrostu hepatocytów; HR (*hazard ratio*) — hazard względny; JAK (*Janus kinase*) — kinaza Janusowa; KLC1 — *kinesin light chain 1*; KRAS — *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*; MEK (*miogen-activated protein*) — kinaza białkowa aktywowana mitogenem; mTOR — *mammalian target of rapamycin kinase*; NSCLC (*non-small cell lung cancer*) — rak płuca niedrobnokomórkowy; OR (*odds ratio*) — iloraz szans; ORR (*objective response rate*) — współczynnik odpowiedzi obiektywnej; PFS (*progression-free survival*) — przeżycie wolne od progresji choroby; PCR (*polymerase chain reaction*) — łańcuchowa reakcja polimerazy; PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*) — kinaza 3-fosfatydilinozytolu; PTEN — *phosphatase and tensin homolog*; RAS — białko Ras; RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*) — łańcuchowa reakcja polimerazy z użyciem odwrotnej transkryptazy; STAT (*signal transducer and activator of transcription*) — czynniki transkrypcyjne; TKI (*tyrosine-kinase inhibitor*) — inhibitor kinazy tyrozynowej; TFG — *TRK fusion gene*

## Wstęp

Rak płuca jest najczęstszą przyczyną zgonów z powodu nowotworów na świecie. Przez wiele lat wpływ na decyzje terapeutyczne miał jedynie podział patomorfologiczny na raki drobno- i niedrobnokomórkowe (NSCLC). Typy histologiczne niedrobnokomórkowego raka płuca — gruczołowy, płaskonabłonkowy oraz wielkomórkowy — nie determinowały sposobu leczenia systemowego. Pierwszy krok ku leczeniu spersonalizowanemu przyniosło badanie, którego wyniki w 2008 roku opublikowali Scagliotti i wsp. [1]. Autorzy dokonali analizy wskazującej, że skuteczność i bezpieczeństwo rodzaju chemioterapii może zależeć od typu histologicznego. W ostatnich kilku latach nastąpił postęp w zrozumieniu procesów molekularnych zachodzących

w komórkach raka płuca. Doprowadziło to do wprowadzenia do praktyki nowych leków ukierunkowanych na cele molekularne — inhibitorów kinazy tyrozynowej receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu, czyli erlotynibu i gefitynibu. Udowodniono, że obecna u około 10% chorych rasy kaukaskiej oraz 20–30% chorych rasy azjatyckiej mutacja aktywująca genu *EGFR* — poza znaczeniem prognostycznym — ma przede wszystkim znaczenie predykcyjne dla odpowiedzi na inhibitory receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) [2–6]. W 2007 roku opisano obecność rearanżacji obejmującej onkogen *ALK* u chorego z niedrobnokomórkowym rakiem płuca, która stała się nowym celem molekularnym terapii.

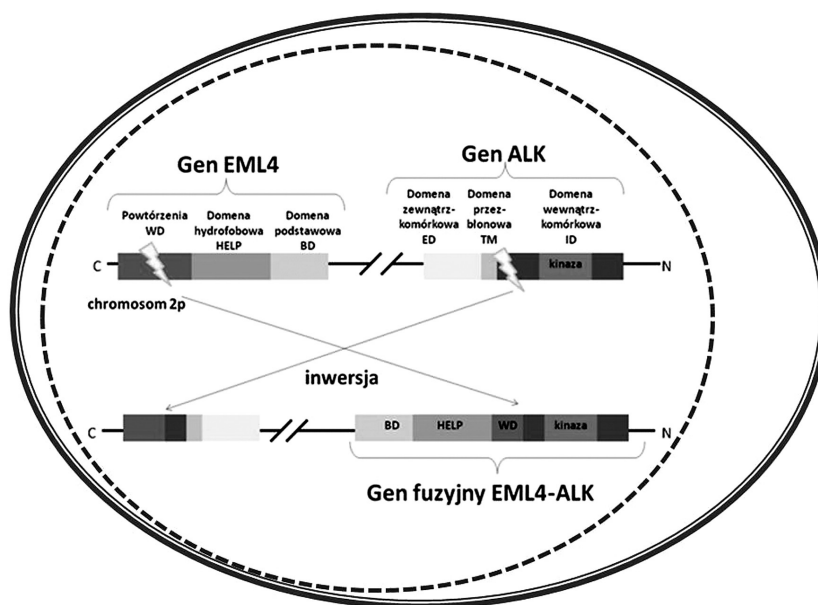
## ALK

Kinaza chłoniaka anaplastycznego (ALK) jest receptorową kinazą tyrozynową, która poprzez wpływ na rozwój mózgu odgrywa ważną rolę w procesie kształtowania organizmu człowieka. Nie ulega ona ekspresji w komórkach dorosłego organizmu poza komórkami ośrodkowego układu nerwowego (neurony, komórki gleju i śródbłónka) [7]. Jej udział w nowotworzeniu po raz pierwszy udowodniono w przypadku chłoniaków anaplastycznych z dużych komórek (ALCL) [8]. Rearanżacje genu *ALK* stwierdzono także w miofibroblastycznych guzach zapalnych oraz nerwiakach płodowych [9–11].

## EML4-ALK

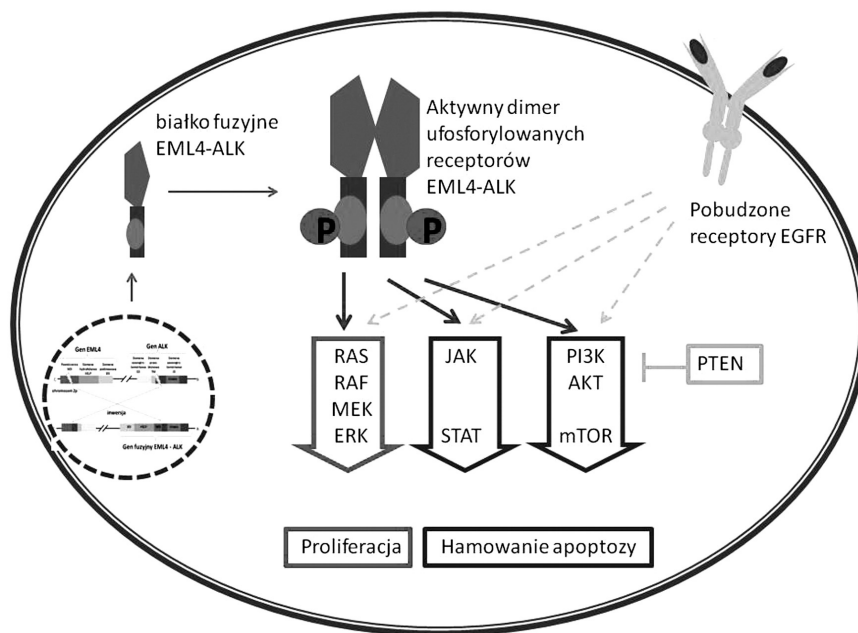
EML4-ALK jest białkiem fuzyjnym o funkcji kinazy tyrozynowej. Występuje u 4–5% chorych na NSCLC [12–14]. Wydaje się jednak, że odsetek ten jest zawyżony przez fakt, iż znaczna liczba doniesień dotyczy odmiennej pod względem molekularnym populacji Azjatów. Wśród chorych rasy kaukaskiej odsetek ten wynosi 2–3% [15, 16].

Białko fuzyjne, w którym białko EML4 jest przyłączone do domeny wewnątrzkomórkowej ALK, powstaje w wyniku małej inwersji w obrębie ramienia krótkiego chromosomu 2 (ryc. 1) [13, 17, 18]. Inwersja, we wszystkich opisanych przypadkach, dotyczy eksonu 20 genu *ALK* oraz różnych części genu *EML4*. Skutkuje to występowaniem wielu wariantów fuzyji. Najczęstsze z nich to E13;A20 i E6a/b;A20 (czyli fuzyja eksonu 13 lub 6 genu *EML4* oraz eksonu 20 genu *ALK*), które łącznie obejmują około 62% przypadków [19]. Produkt genu fuzyjnego podlega konstytutywnej dimeryzacji poprzez interakcję między domenami regionu EML4 każdego monomeru. Proces ten prowadzi do aktywacji kinazy ALK i jej onkogennej aktywności przez pobudzenie szlaków PI3K/Akt oraz RAS/MEK/ERK (ryc. 2) [13, 20].



Rycina 1. Mechanizm powstawania genu fuzyjnego *EML4-ALK*

Figure 1. A mechanism of formation of *EML4-ALK* fusion gene



Rycina 2. Aktywacja i funkcja kinazy ALK

Figure 2. Activation and function of ALK kinase

**Tabela 1. Częstość występowania translokacji EML4-ALK u pacjentów rasy kaukaskiej z niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NSCLC)**

Table 1. A frequency of EML4-ALK translocation in Caucasian NSCLC patients

Autor	Częstość ALK(+)	Kryteria doboru
Bergethon i wsp. [35]	2%	Populacja niewyselekcjonowana
Perner i wsp. [16]	2,7%	Populacja niewyselekcjonowana
Paik i wsp. [36]	6%	Gruczolakorak
Kris i wsp. [2]	6%	Gruczolakorak
Martelli i wsp. [33]	7,5%	Populacja niewyselekcjonowana
Shaw i wsp. [28]	13%	Co najmniej 2 z: gruczolakorak, kobieta, niepalący lub mało palący, rasa azjatycka
Just i wsp. [15]	20%	Gruczolakorak, brak mutacji EGFR, niepalący lub mało palący

Fuzja ALK i EML4 została zidentyfikowana u pacjentów z NSCLC w 2007 roku [13]. Jej obecność stwierdzono także u chorych z rakiem piersi, rakiem jelita grubego i nerki [21, 22].

W rearanżacje genu *ALK* w NSCLC mogą być zaangażowane także inne geny. Opisywano fuzje regionu wewnątrzkomórkowej domeny *ALK* z genem *TFG* [23] i *KIF5B* [24, 25] oraz *KLC1* [26]. Występują one jednak rzadziej niż EML4-ALK.

Obecność tej aberracji w genie *ALK* może być czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na zastosowanie inhibitora kinazy tyrozynowej EML4-ALK oraz prognostycznym w NSCLC.

Pacjenci z NSCLC wykazującym obecność EML4-ALK są oporni na terapię EGFR TKI, a obecność genu fuzyjnego zazwyczaj koreluje z brakiem mutacji w genach *EGFR* i *KRAS* [27, 28].

Europejskiej w zależności od warunków selekcji przedstawiono w tabeli 1.

W retrospektywnej analizie 200 chorych z NSCLC Doebele i wsp. [37] porównali częstość występowania przerzutów narządowych z fenotypem nowotworu. W grupie 41 chorych z obecnością translokacji obejmującej *ALK* zaobserwowano prawie 5-krotnie częściej przerzuty do opłucnej (OR 4,80;  $p < 0,001$ ) i osierdza (OR 4,61;  $p = 0,02$ ) niż u chorych z rakiem płuca ALK(-). Zauważono także, że u chorych z obecnością rearanżacji genu *ALK* (OR 5,50;  $p = 0,03$ ) lub mutacji genu *EGFR* (OR 5,17;  $p = 0,006$ ) w komórkach raka częściej występują przerzuty do wątroby w porównaniu z grupą bez rearanżacji *ALK* oraz mutacji *EGFR* i *KRAS* („triple negative” lung cancer).

## Populacja

Niedrobnokomórkowy raka płuca z translokacją EML4-ALK to prawie zawsze rak gruczolowy. Zaobserwowano większą niż w ogólnej populacji raków płuca częstość występowania komórek sygnetowatych w guzach [29]. Translokacja dotyczy głównie chorych o cechach klinicznych podobnych do cech chorych z mutacją genu *EGFR*, jednak w większości przypadków obie mutacje wzajemnie się wykluczają [14, 19, 20, 28, 30]. Translokacje EML4-ALK częściej występują wśród młodych mężczyzn z NSCLC [27, 30]. Podobny związek zauważono w odniesieniu do statusu palenia — u niepalących lub byłych „lekkich” palaczy (maksymalnie 10 paczkolet, niepalący od co najmniej roku) aberracja genu *ALK* występuje z częstością 9,4%; u obecnych palaczy odsetek ten wynosi tylko 2,9% [13, 14, 27, 28, 30–34].

Częstość występowania translokacji EML4-ALK wśród chorych z NSCLC populacji amerykańskiej lub

## Kryzotynib

Kryzotynib (Xalkori®; Pfizer) jest doustnym, selektywnym, ATP-kompetytywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej ALK. Pierwsze badania tego leku wiązały się jednak z jego aktywnością jako inhibitora cMET/HGFR [38]. Inne badania wskazują, że kryzotynib prawdopodobnie może być także inhibitorem kinazy ROS1 [35]. Lek uzyskał rejestrację przez FDA w sierpniu 2011 roku w leczeniu zaawansowanego i przerzutowego NSCLC z rearanżacją *ALK*, na podstawie rozszerzonego badania I oraz II fazy. Rekomendowana dawka leku wynosi 250 mg (2 × dziennie).

Bang i wsp. podczas kongresu Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ASCO) w 2010 roku przedstawili wstępne wyniki rozszerzonego badania I fazy (PROFILE 1001). Terapia kryzotynibem w wyselekcjonowanej molekularnie populacji chorych, u większości których zastosowano wcześniej kilka linii leczenia (0–7; mediana 3), przyniosła 64% obiektywnych odpowiedzi (ORR) oraz 90-procentowy wskaźnik kontroli choroby (DCR) [39]. Kolejne wyniki rozszerzonego badania I fazy

Kwak i wsp. opublikowali w październiku 2010 roku. Spośród analizowanych około 1500 chorych z NSCLC do badania włączono 82 (5%), u których wykryto aberrację regionu *ALK*. Ponad 90% z nich otrzymało co najmniej 1, a około 40% co najmniej 3 linie wcześniejszej terapii. Całkowitą remisję uzyskano u 1 chorego, częściową u 46 (ORR 57%), a stabilizację choroby u 27 (33%). Prawdopodobieństwo 6-miesięcznego przeżycia bez progresji choroby (PFS) oszacowano na 72% [34]. Na kongresie ASCO w 2011 roku zaprezentowano doniesienie uzupełniające wyniki badania I fazy. Po okresie obserwacji, którego mediana wyniosła 11 miesięcy, medianę PFS obliczono na 10 miesięcy (95% CI: 8–15 miesięcy) [40].

Na tej samej konferencji przedstawiono także wstępne wyniki badania II fazy (PROFILE 1005), które potwierdzały uzyskane wcześniej rezultaty: 54% ORR i 91% DCR. Odpowiedź oceniano u 76 chorych z rozpoznaną rearanżacją *ALK*, większość objętych badaniem pacjentów była niepaląca z utkaniem histologicznym gruczolakoraka [41].

W październiku 2011 roku ukazała się retrospektywna analiza, która — po medianie czasu obserwacji wynoszącej 18 miesięcy — objęła populację 82 chorych włączonych do badania I fazy. Zastosowanie kryzotynibu u chorych, spośród których 89% otrzymało co najmniej 1 rzut leczenia systemowego (2–7; mediana 2), przyniosło przeżycie 1- i 2-letnie u odpowiednio 74% i 54% badanych [42]. Całkowite przeżycia nie różniły się w zależności od wieku badanych, faktu palenia tytoniu czy rasy. Dane zebrane na podstawie obserwacji pacjentów leczonych kryzotynibem porównano z danymi dotyczącymi grupy kontrolnej chorych z rearanżacją regionu *ALK*, którzy nie otrzymali tego leku. Otrzymane wyniki sugerują poprawę przeżycia wynikającą z zastosowania inhibitora kinazy *ALK*. Istotność statystyczną uzyskano przy porównaniu pacjentów po 1 lub 2 liniach wcześniejszego leczenia (HR 0,36; 95% CI 0,17–0,75;  $p = 0,004$ ).

Dane uzyskane z obserwacji 149 chorych, którzy zostali włączeni do badania I fazy w okresie od sierpnia 2008 roku do czerwca 2011 roku ukazały się w październiku 2012 roku. Spośród 143 pacjentów, u których oceniono odpowiedź, 3 uzyskało całkowitą, a 84 częściową remisję zmian (ORR 60,8%). Uzyskanie odpowiedzi wydawało się nie zależeć od płci, wieku, stanu ogólnego ani liczby linii wcześniejszego leczenia. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła 9,7 miesiąca (95% CI 7,7–12,8). Odsetek przeżyć całkowitych po 6 i 12 miesiącach oszacowano na odpowiednio 87,9% (95% CI 81,3–92,3) oraz 74,8% (66,4–81,5) [43]. Obecnie trwa badanie III fazy porównujące skuteczność kryzotynibu w porównaniu z chemioterapią opartą na pemetrekseście stosowaną łącznie z analogiem platyny w I linii leczenia chorych z *ALK* pozytywnymi NSCLC

(www.clinicaltrials.gov; identyfikator: NCT01154140) oraz badanie III fazy z zastosowaniem kryzotynibu lub standardowej chemioterapii w II linii leczenia (docetaksel albo pemetrekseď) (www.clinicaltrials.gov; identyfikator: NCT00932893).

## Toksyczność leczenia

U większości chorych otrzymujących kryzotynib (97%) występowały niepożądane następstwa związane z leczeniem [43]. Do najczęstszych — głównie łagodnych lub umiarkowanych (1. lub 2. stopień) — powikłań należały: zaburzenia widzenia, nudności, biegunka, zaparcia, wymioty oraz obrzęki obwodowe. Większość z tych objawów pojawiała się wcześniej po rozpoczęciu przyjmowania leku (w pierwszym cyklu), a ich natężenie ulegało zmniejszeniu wraz z kontynuacją terapii [40].

Z bardziej nasilonych działań niepożądanych leczenia kryzotynibem badacze wymieniają neutropenię, limfopenię, wzrost stężenia aminotransferaz, duszność oraz hipofosfatemię [34, 43]. We wstępnych wynikach badania II fazy częstość zdarzeń niepożądanych 3. lub 4. stopnia oszacowano na 15%, a zgon związany z leczeniem wystąpił u 2 pacjentów [41]. Według danych udostępnionych przez producenta leku poważne zdarzenia niepożądane występujące u co najmniej 2% leczonych kryzotynibem chorych obejmują zapalenie płuc, duszność i zatorowość płucną (<http://www.pfizerpro.com/hcp/xalkori/adverse-reactions> dostęp *on-line* 14/09/2012).

## Oporność

Pomimo obecności rearanżacji w obrębie genu *ALK* nie wszyscy chorzy uzyskują odpowiedź na kryzotynib. Jednocześnie osoby, które zareagowały na leczenie po pewnym czasie, nabywają oporność. Ze względu na stosunkowo krótki upływ czasu od pierwszych testów z inhibitorami *ALK* dostępne obserwacje oparte są na badaniach z małych grup.

Na podstawie analizy pacjentów, u których stwierdzono progresję podczas leczenia kryzotynibem w badaniu I fazy, opisano kilka mechanizmów pierwotnej lub wtórnej oporności na terapię anty-*ALK*. Wśród nich wymienia się nabyte mutacje w regionie kodującym miejsce wiążące ATP kinazy *ALK*, wzrost liczby kopii genu fuzyjnego, współistniejące pierwotnie lub nabyte mutacje *EGFR* lub *KRAS* [44]. Podobne mechanizmy oporności na inhibitory *ALK* — wtórne mutacje *ALK* oraz aktywacja szlaku mediowanego przez *EGFR* — wymienia Sasaki i wsp. po analizie guzów i linii komórkowych [45].



## Diagnostyka

Wiele metod diagnostycznych było i jest badanych pod względem użyteczności do wykrywania fuzji genu *ALK*.

Łańcuchowej reakcji polimerazy z użyciem odwrotnej transkryptazy (RT-PCR) użyto w badaniu, które jako pierwsze wykazało obecność inwersji w obrębie *ALK* u niektórych pacjentów z rakiem płuca [13]. W związku z koniecznością znajomości 5'-końcowego partnera fuzji genu *ALK* oraz problemem z dostępnością wysokiej jakości materiału metoda ta wydaje się mało użyteczna w badaniu przesiewowym.

Badanie immunohistochemiczne, powszechnie stosowane w ocenie ekspresji białka fuzyjnego w chłoniakach anaplastycznych, miało swoje ograniczenia w związku z niższą niż w ALCL ekspresją białka fuzyjnego w niedrobnokomórkowym raku płuca. Jednak od momentu wprowadzenia do praktyki bardziej czułych przeciwciał jest badaniem o wysokim potencjale użyteczności [46].

Metoda FISH, mimo swoich ograniczeń, była zastosowana w badaniach klinicznych kryzotylinu w raku płuca. Za wynik pozytywny uznano obecność rozdwojonego lub dominującego czerwonego sygnału w co najmniej 15% analizowanych jąder komórkowych [34]. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków zatwierdziła tę metodę do oznaczania obecności rearanżacji *ALK* przed rozpoczęciem leczenia kryzotylinem.

Badanie immunohistochemiczne oraz FISH można zastosować do detekcji aberracji *ALK* bez względu na partnera fuzji, co podnosi ich wartość jako metod przesiewowych.

## Podsumowanie

Leczenie pacjentów z NSCLC ewoluuje w kierunku podejścia spersonalizowanego wykorzystującego w podejmowaniu decyzji profile molekularne i genetyczne.

Terapia nakierowana na inhibicję kinazy *ALK* jest szczególnym przykładem efektywnej terapii ukierunkowanej molekularnie w onkologii. Zaledwie kilka lat po poznaniu zaburzenia molekularnego doszło do jego walidacji jako celu terapeutycznego. Znaczące wskaźniki obiektywnej odpowiedzi, czas jej trwania oraz akceptowalna toksyczność zaobserwowane w badaniach I i II fazy pozwoliły na rejestrację kryzotylinu w Stanach Zjednoczonych w sierpniu 2011 roku. Oczywiście ograniczeniem tej terapii jest jednak rzadkość występowania celu molekularnego w ogólnej populacji chorych oraz stosunkowo szybkie pojawianie się wtórnej oporności.

Trwające obecnie badania III fazy pozwolą na ostateczną ocenę skuteczności leczenia inhibitorem kinazy

*ALK*. Konieczne są dalsze badania w celu ustalenia miejsca terapii celowanej kryzotylinem w praktyce klinicznej.

## Piśmiennictwo

- Scagliotti G.V., Parikh P., von Pawel J. i wsp. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 3543–3551.
- Kris M.G., Johnson B.E., Kwiatkowski D.J. i wsp. Identification of driver mutations in tumor specimens from 1,000 patients with lung adenocarcinoma: The NCI's Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC). *Journal of Clinical Oncology* 2011; 29 (supl.): CRA7506.
- Sequist L.V., Bell D.W., Lynch T.J., Haber D.A. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 587–595.
- Shigematsu H., Lin L., Takahashi T. i wsp. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005; 97: 339–346.
- Douillard J.Y., Shepherd F.A., Hirsh V. i wsp. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 744–752.
- Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R. i wsp. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2129–2139.
- Pulford K., Lamant L., Morris S.W. i wsp. Detection of anaplastic lymphoma kinase (*ALK*) and nucleolar protein nucleophosmin (*NPM*)-*ALK* proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody *ALK1*. *Blood* 1997; 89: 1394–1404.
- Morris S.W., Kirstein M.N., Valentine M.B. i wsp. Fusion of a kinase gene, *ALK*, to a nucleolar protein gene, *NPM*, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1995; 267: 316–317.
- Coffin C.M., Hornick J.L., Fletcher C.D. Inflammatory myofibroblastic tumor: comparison of clinicopathologic, histologic, and immunohistochemical features including *ALK* expression in atypical and aggressive cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 2007; 31: 509–520.
- Chen Y., Takita J., Choi Y.L. i wsp. Oncogenic mutations of *ALK* kinase in neuroblastoma. *Nature* 2008; 455: 971–974.
- George R.E., Sanda T., Hanna M. i wsp. Activating mutations in *ALK* provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature* 2008; 455: 975–978.
- Li T., Mack P.C., Desai S. i wsp. Large-scale screening of *ALK* fusion oncogene transcripts in archival NSCLC tumor specimens using multiplexed RT-PCR assays. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (supl.): 10520.
- Soda M., Choi Y.L., Enomoto M. i wsp. Identification of the transforming *EML4-ALK* fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007; 448: 561–566.
- Koivunen J.P., Mermel C., Zejnullahu K. i wsp. *EML4-ALK* fusion gene and efficacy of an *ALK* kinase inhibitor in lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 4275–4283.
- Just P.A., Cazes A., Audebourg A. i wsp. Histologic subtypes, immunohistochemistry, FISH or molecular screening for the accurate diagnosis of *ALK*-rearrangement in lung cancer: A comprehensive study of Caucasian non-smokers. *Lung Cancer* 2012; 76: 309–315.
- Perner S., Wagner P.L., Demicheli F. i wsp. *EML4-ALK* fusion lung cancer: a rare acquired event. *Neoplasia* 2008; 10: 298–302.
- Mano H. Non-solid oncogenes in solid tumors: *EML4-ALK* fusion genes in lung cancer. *Cancer Sci.* 2008; 99: 2349–2355.
- Horn L., Pao W. *EML4-ALK*: honing in on a new target in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4232–4235.
- Sasaki T., Rodig S.J., Chirieac L.R., Jänne P.A. The biology and treatment of *EML4-ALK* non-small cell lung cancer. *Eur. J. Cancer* 2010; 46: 1773–1780.
- Soda M., Takada S., Takeuchi K. i wsp. A mouse model for *EML4-ALK*-positive lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 19893–19897.
- Sugawara E., Togashi Y., Kuroda N. i wsp. Identification of anaplastic lymphoma kinase fusions in renal cancer. *Cancer* 2012; 118: 4427–4436.

22. Lin E., Li L., Guan Y. i wsp. Exon array profiling detects EML4-ALK fusion in breast, colorectal, and non-small cell lung cancers. *Mol. Cancer Res.* 2009; 7: 1466–1476.
23. Rikova K., Guo A., Zeng Q. i wsp. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell* 2007; 131: 1190–1203.
24. Takeuchi K., Choi Y.L., Togashi Y. i wsp. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokine identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 3143–3149.
25. Wong D.W., Leung E.L., Wong S.K. i wsp. A novel KIF5B-ALK variant in non-small cell lung cancer. *Cancer* 2011; 117: 2709–2718.
26. Togashi Y., Soda M., Sakata S. i wsp. KLC1-ALK: a novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only. *PLoS One* 2012; 7: e31323.
27. Wong D.W., Leung E.L., So K.K. i wsp. The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS. *Cancer* 2009; 115: 1723–1733.
28. Shaw A.T., Yeap B.Y., Mino-Kenudson M. i wsp. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4247–4253.
29. Rodig S.J., Mino-Kenudson M., Dacic S. i wsp. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 5216–5223.
30. Inamura K., Takeuchi K., Togashi Y. i wsp. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. *Mod. Pathol.* 2009; 22: 508–515.
31. Inamura K., Takeuchi K., Togashi Y. i wsp. EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. *J. Thorac. Oncol.* 2008; 3: 13–17.
32. Shinmura K., Kageyama S., Tao H. i wsp. EML4-ALK fusion transcripts, but no NPM-, TPM3-, CLTC-, ATIC-, or TFG-ALK fusion transcripts, in non-small cell lung carcinomas. *Lung Cancer* 2008; 61: 163–169.
33. Martelli M.P., Sozzi G., Hernandez L. i wsp. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am. J. Pathol.* 2009; 174: 661–670.
34. Kwak E.L., Bang Y.J., Camidge D.R. i wsp. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 1693–1703.
35. Bergeth K., Shaw A.T., Ignatius Ou S.H. i wsp. ROS1 Rearrangements Define a Unique Molecular Class of Lung Cancers. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 863–870.
36. Paik P.K., Arcila M.E., Fara M. i wsp. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 2046–2051.
37. Doebele R.C., Lu X., Sumey C. i wsp. Oncogene status predicts patterns of metastatic spread in treatment-naïve non-small cell lung cancer. *Cancer* 2012; 118: 4502–4511.
38. Christensen J.G., Schreck R., Burrows J. i wsp. A selective small molecule inhibitor of c-Met kinase inhibits c-Met-dependent phenotypes in vitro and exhibits cytoreductive antitumor activity in vivo. *Cancer Res.* 2003; 63: 7345–7355.
39. Bang Y., Kwak E.L., Shaw A.T. i wsp. Clinical activity of the oral ALK inhibitor PF-02341066 in ALK-positive patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *J. Clin. Oncol.* 2010; 28 (supl.): 3.
40. Camidge D.R., Bang Y., Kwak E.L. i wsp. Progression-free survival (PFS) from a phase I study of crizotinib (PF-02341066) in patients with ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (supl.): 2501.
41. Crino L., Kim D., Riely G.J. i wsp. Initial phase II results with crizotinib in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC): PROFILE 1005. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (supl.): 7514.
42. Shaw A.T., Yeap B.Y., Solomon B.J. i wsp. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2011; 12: 1004–1012.
43. Camidge D.R., Bang Y.J., Kwak E.L. i wsp. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 1011–1019.
44. Doebele R.C., Pilling A.B., Aisner D.L. i wsp. Mechanisms of Resistance to Crizotinib in Patients with ALK Gene Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18: 1472–1482.
45. Sasaki T., Koivunen J., Ogino A. i wsp. A novel ALK secondary mutation and EGFR signaling cause resistance to ALK kinase inhibitors. *Cancer Res.* 2011; 71: 6051–6060.
46. Mino-Kenudson M., Chirieac L.R., Law K. i wsp. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 1561–1571.